УДК: 634.4:57.085.23

КЛОНАЛЬНОЕ МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР В РАЗВИТИИ

С.Д.СУЛЕЙМАНОВА
НИИ плодоводства и чаеводства МСХА

В статье дана общая характеристика биотехнологии растений, в частности, метода культуры изолированных клеток, тканей и органов растений. Дан анализ этапов и направлений развития метода. Основное внимание уделено клональному микроразмножению некоторых плодовых растений.

Ключевые слова: *биотехнология, клональное микроразмножение, плодовые культуры, in vitro.*

В настоящее время во многих странах мира развитию биотехнологии придается первостепенное значение в силу ряда существенных преимуществ перед другими видами технологий: биотехнологические процессы обладают низкой энергоемкостью, почти безотходны, экологически чистые. Вместе с тем, эти технологии предусматривают использование стандартного оборудования и препаратов, а также проведение исследований круглый год, независимо от климатических условий, занимая при этом незначительные площади.

Вышеуказанные преимущества имеют непосредственное отношение к культуре клеток, тканей и органов растений. Для того чтобы манипулировать клетками, нужно выделить их из растения и создать такие условия, при которых они могли бы жить и размножаться вне растительного организма. Метод культивирования изолированных клеток и тканей на искусственных питательных средах в стерильных условиях (*in vitro*) получил название культуры изолированных тканей и приобрел особое значение в связи с возможностью использования его в биотехнологии [3].

Попытки культивировать изолированные от растений ткани делались давно, и в истории развития этого метода можно выделить несколько этапов [3, 22, 24]:

I этап (1892-1902 гг.) связан с именами таких немецких исследователей, как, Герман Фехтинг, Карл Рехингер, Готлиб И.Ф. Хаберландт. Они пытались культивировать в растворе сахарозы различные растительные ткани, однако рост их не был получен. Лишь для сегментов стеблей одуванчика и тополя был получен первичный каллус и определен минимальный размер сегмента, способного к каллусогенезу. Не достигнув экспериментальных успехов, эти исследователи высказали ряд идей и гипотез, которые нашли свое подтверждение значительно позже. Так, Хаберландт выдвинул гипотезу о тотипотентности любой живой растительной клетки, т.е. способности клеток реализовывать свой потенциал развития и давать начало образованию целого растения при определенных условиях культивирования.

II этап (1902-1922 гг.) ознаменовался созданием первых питательных сред для культивирования тканей животных. Гаррисон и Каррель разработали методику выращивания животных клеток на питательных средах природного происхождения (плазма крови, зародышевая жидкость, лимфа).

III этап (1922-1932 гг.). Американский исследователь В. Роббинс и независимо от него немецкий ученый В. Котте показали возможность культивирования на синтетической питательной среде меристемы кончиков корней томатов и кукурузы. Эти опыты можно считать началом развития метода культуры изолированных корней растений. По разным причинам, получив успех, эти исследователи не продолжили работы с изолированными корнями.

IV этап (1932-1940 гг.) связан с успешным развитием метода культуры тканей и клеток высших растений, начало которому положили работы двух исследователей – французского Р. Готре и американского Ф. Уайта. Они начали с анализа и повторения опытов Роббинса и Котте и пошли дальше, показав, что если кончики культивируемых корней периодически пересаживать на свежую питательную среду, то они могут расти и культивироваться неограниченно долго. Р. Готре ввел в культуру новые объекты – каллусные ткани древесных растений камбиального происхождения и каллусные ткани запасающей паренхимы. Ф.Уайт показал способность к неограниченному росту при субкультивировании тканей растительных опухолей. Эти открытия дали

новый толчок в работе по культуре ткани, который ознаменовался нарастающим числом новых объектов, успешно введенных в культуру.

V этап (1940-1960 гг.). В период между 1940-1960 гг. ученики и последователи Готре и Уайта закрепляют успех. Множится число видов растений, ткани которых выращиваются *in vitro,* - их список, приведенный в классической монографии по культуре ткани, написанной Р.Готре включал уже 142 вида высших растений, разрабатываются составы разных питательных сред, что позволило получать пересадочные культуры из разных органов и тканей растений, выявляется значение индивидуальных макро- и микроэлементов для поддержания ростовой активности каллусной ткани и потребность тканевых культур в витаминах и стимуляторах роста. В опытах ученых из США Ф.Скуга и К.Миллера изучена способность к делению и образованию каллуса клетками сердцевинной паренхимы стебля табака сорта "Висконсин", выявлен новый класс стимуляторов роста – цитокинины. Полученный этими исследователями в результате щелочного гидролиза ДНК животного происхождения кинетин (β-фурфуриламинопурин) оказался способным в комбинации с β-индодил-3-уксусной кислотой (ИУК) стимулировать деление клеток сердцевидной паренхимы табака, лишенной проводящих пучков и камбия. Клетки сердцевинной паренхимы, помещенные на питательную среду с ИУК, но без добавления этого нового стимулятора (кинетина), не делились. В последующих работах комбинация известных экзогенных ауксинов с обнаруженными цитокининами (кинетин) широко использовались при культивировании *in vitro*. В зависимости от концентрации и соотношения стимуляторов можно было стимулировать деление клеток эксплантa, поддерживать рост каллусной ткани, индуцировать морфогенез.

VI этап (1960-1975 гг.). Наиболее важным событием в период 1960-1975 гг. была разработка профессором Ноттингемского университета Е.Кокингом метода получения изолированных протопластов и тканей корня и плодов томатов путем обработки их смесью пектолитических и целлюлитических ферментов полученных из культуральной жидкости грибов. Были найдены условия культивирования изолированных протопластов, при которых они образуют новую клеточную стенку, делятся и дают начало клеткам, способным в ряде случаев к морфогенезу. Вместе с тем изолированные протопласты, еще не образовавшие клеточную стенку, были использованы для разработки методов гибридизации соматических клеток путем слияния протопластов с помощью полиэтиленгликоля (ПЭГ), а также для введения в них вирусных РНК, клеточных органелл, клеток прокариотов.

В этот период был разработан метод культуры меристем (клонального микроразмножения), позволяющий быстро, с высоким коэффициентом, клонально размножать растения в асептических условиях. Было показано, что растения, полученные из меристем, в ряде случаев освобождались от вирусных инфекций. Тестирование их на отсутствие вирусов и массовое клональное микроразмножение позволяло получать оздоровленный посадочный материал экономически важных растений.

Много внимания в этот период продолжают уделять индукции морфогенеза в культуре тканей и клеток. Большое фундаментальное и прикладное значение имело открытие индукции андрогенеза при культивировании изолированных пыльников и гиногенеза при культивировании клеток зародышевого мешка. Использование андрогенеза и гиногенеза для получения гаплоидов и дигаплоидных линий представляло интерес для селекции.

VII этап (1975 г.- по настоящее время). С 1976-го года и по настоящее время продолжается быстрое развитие техники in vitro, изучение биологии культивируемых растительных объектов и создание биотехнологий на их основе. Разработка методов электрослияния изолированных протопластов и разнообразных методов селекции гибридных клеток значительно облегчила гибридизацию соматических клеток растений. Методы мутагенеза и клеточной селекции, получение сомаклональных вариантов и экспериментальных гаплоидов используются для создания новых форм и сортов сельскохозяйственных растений. С использованием изолированных протопластов и генетических векторов на основе Ti-плазмид, электропорации и баллистического введения генов в клетки и ткани реципиентов стало возможно получение трансгенных растений.

Таким образом, достижения в области культуры клеток и тканей привели к созданию принципиально нового метода вегетативного размножения – клонального микроразмножения. Клональное микроразмножение - массовое бесполое размножение растений в культуре клеток и тканей, при котором возникшие формы растений генетически идентичны исходному экземпляру. В основе метода лежит уникальная способность растительной клетки реализовывать присущую ей тотипотентность, т.е. под влиянием

экзогенных воздействий давать начало целому растительному организму.

Растения полученные методом клонального микроразмножения имеют следующие преимущества [1, 3, 5, 6, 9]:

1. Оздоровление посадочного материала от вирусной, бактериальной и грибной инфекции. Небольшой размер экспланта, применяемого для клонального микроразмножения, его поверхностная стерилизация, асептическое (стерильное) культивирование на стерильных питательных средах в условиях, исключающих инфицирование, оздоравливает получаемые растения от нематод и бактериальных патогенов. Кроме этого, по мнению Бесединой Е.Е., растение, выращенное из меристемы, является свободным от вирусов, даже если меристема была взята у заражённой особи, так как меристематическая верхушка нарастает быстрее, чем вирусы продвигаются по растению.

2. Безвирусные саженцы меньше поражаются грибными, бактериальными и другими болезнями.

3. Урожайность меристемных саженцев выше. Специалистами отмечено, что с размноженных культурой тканей маточных растений получают в 2 раза больше саженцев, причем их качество выше, чем у подвоев, полученных с материнских растений, размноженных традиционными способами.

4. Саженцы, полученные микроклональным размножением генетически однородны, таким образом, появляется возможность получить большое количество однородных растений от одного маточного в сжатые сроки. Например при размножении подвоев традиционными способами требуется 2-3 года, при использовании клонального микроразмножения этот период можно сократить до одного года, и при этом возможно оздоровление растений.

5. Меристемное размножение позволяет получить потомство от трудно размножаемых традиционными способами растений.

6. Миниатюризация процесса, приводящая к экономии площадей, занятых маточными и размножаемыми растениями и рабочей силы.

7. Возможность обмена растительным материалом без риска переноса патогенов как внутри страны, так и в международном масштабе.

Во всем мире маточники закладываются саженцами, размноженными *in vitro*. Высокое качество таких маточников оправдывает затраты. Минаев В.А. [9] утверждает, что использование биотехнологических методов в питомниководстве позволяет повысить эффективность оздоровления растений до 100% и в 5-10 раз увеличить коэффициент размножения.

Процесс клонального микроразмножения можно разделить на 4 этапа [2, 3, 5, 22]: 1-ый этап - выбор маточных растений, изолирование эксплантов, введение в культуру in vitro; 2-ой этап - собственно микроразмножение, при этом необходимо получить максимальное число хорошо растущих меристематических клонов; 3-ий этап - укоренение микропобегов; 4-ый этап - адаптация мериклонов к нестерильным условиям среды, выращивание растений в условиях теплицы и подготовка их к реализации или посадке в поле.

Чтобы эффективность микроклонального размножения была высокой, необходимо также на всех этапах выполнения этой биотехнологии поддерживать оптимальные условия выращивания. Такие параметры, как расположение экспланта в культуральном сосуде (горизонтальное или вертикальное), тип пробок (ватные, пластмассовые, стеклянные, металлические и т.д.), соотношение объёмов микропобегов и питательной среды также влияют на эффективность размножения, причём для каждого вида и даже сорта растения. Все эти параметры следует подбирать индивидуально.

Для каждого конкретного сорта растения на каждом этапе требуется индивидуальный подбор состава питательной среды [2, 3, 5, 6, 11, 12, 22].

Питательные среды для культивирования эксплантов плодовых культур могут быть твёрдыми, жидкими, двухслойными: нижний слой – агаризованный, верхний – жидкий. Жидкие среды обеспечивают большую подвижность трофических элементов. В этом их преимущество. Однако на таких средах сложно зафиксировать эксплант. Поэтому микропобеги на жидких средах закрепляют с помощью фильтровальных мостиков или используют двухслойные среды.

Эффективность клонального микроразмножения в значительной степени определяется составом питательной среды. Минеральный состав питательной среды, обусловленный основными физиологическими требованиями большинства тканей растений, наиболее стабилен, его модификации достигаются внесением различных добавок: аминокислот, регуляторов роста, витаминов.

Наиболее распространена среда Мурасиге-Скуга [19] (таблица), которая содержит хорошо сбалансированный состав питательных веществ, благоприятный для роста изолированных тканей многих растений, в том числе подвоев яблони. Она отличается большим содержанием неорганического азота, который стимулирует

процессы органогенеза и соматического эмбриогенеза. Некоторые среды являются модификациями среды Мурасиге-Скуга: среда Пирика, Линсмайер-Скуга.

Не менее популярна среда Гамборга [16] (таблица). Она применяется для

Таблица

Прописи основных питательных сред используемых в микроклональном размножении растений

Компонент	Состав питательной среды, мг/л					
	Gamborg (B5)	Knudson	Murashige & Skoog	Harvais İ A	White	Quoirin-Lepoivre (QL)
$Ca(NO_3)_2*4H_2O$		1000.0		400.0	300	833,8
$(NH_4)_2SO_4$	134.0	500.0				
KNO_3	2500		1900.0	200.0	80	1900
$CaCl_2*2H_2O$	150.0		440.0			-
NH_4NO_3	-		1650.0	400.0		400
KH_2PO_4	-	250.0	170.0	200.0		270
KCl	-			100.0	65	
$MgSO_4*7H_2O$	250.0	250.0	370.0	200.0	720	360.4
$FeSO_4*7H_2O$	28.0	25.0	27.95			27.8
$(FeSO_4)_3$					2.5	
$Na_2H_2PO_4*2H_2O$	169.6				16.5	
Na_2SO_4					200	
Na_2 ЭДТА	37.3		37.3			37.3
Хелат железа				5 ml		
$CoCl_2*6H_2O$	0.025		0.025	0.02		0.025
$ZnSO_4*7H_2O$			8.6	0.5	3.0	8.6
H_3BO_3	3.0		6.2	0.5	1.5	6.2
$MnSO_4*4H_2O$	13.2	7.5	22.3	0.5	7.0	-
$MnSO_4*H_2O$	-	-	-	-		0.76
$CuSO_4*5H_2O$	0.025		0.025	0.5	0.001	0.025
$Na_2MoO_4*2H_2O$	0.25		0.25	0.04		
$MoSO_3$					0.0001	
Kl	0.75		0.83	0.1	0.75	0.8
Глицин	-		2.0		3.0	0.25
Мезоинозит	100.0		100.0			100.0
Никотиновая кис-та	1.0		0.5	5.0	0.5	0.5
Тиамин	10.0		0.1	5.0	0.1	0.5
Пиридоксин	1.0		0.5	0.5	0.1	0.5
Фолиевая кис-та						
Биотин						
Гидролизат казеина						
L-Глютамин						
6-БАП			1.2-2.0			1.2-2.0
Сахароза	20000	20000	30000		20000	30000
Картофельный экстракт				100.0 ml		
Агар-агар	7000-8000	17500	10000	10000		8000
Аскорбиновая кислота	10.0		10.0			1.5
pH-среды		4.8-5.2	5.7	6.0-6.4		

культивирования тканей многих растений: общая концентрация солей ниже, чем в среде Мурасиге-Скуга, но больше содержание нитратного азота и меньше аммиачного.

Среда Уайта [26] (таблица) часто используется в модификациях, так как в оригинальной прописи уровень солей К и Na довольно низок для роста каллуса и его пролиферации.

Матушкина О.В. и Пронина И.Н. [6] выявили, что оптимальной средой для культивирования *in vitro* яблони и груши является среда Кворина-Лепуавра [21] (таблица). По их мнению снижение концентрации макроэлементов в данной среде в 2 и 4 раза позволяет продлить длительность беспересадочного культивирования до 9 мес. у подвоев яблони 76-6-6, 76-8-13, ПБ 9 с сохранением всех эксплантов в отличие от подвоя 76-6-13, у которого 100% сохранность наблюдается при разбавлении питательной среды только в 4 раза, в то время как на полной среде происходит их гибель

Эти же ученые [7, 8] получили патенты на питательные среды для размножения и укоренения яблони и груши. Сущность изобретений состоит в том, что в качестве базовой среды для пролиферации побегов яблони и груши используют водорастворимые удобрения "Мастер марки 3.11.38+4" (для этапа собственно микроразмножение) и "Акварин 5" (для этапа укоренения), содержащие комплекс макро- и микроэлементов. Данные комплексные вещества применяют вместо основных макро- и микроэлементов, входящих в состав питательных сред по прописям Мурасиге-Скуга [19] и Кворина-Лепуавра [21]. По мнению специалистов, заявляемые компоненты значительно упрощают технологию приготовления питательных сред за счет исключения приготовления маточных растворов, что существенно снижает ресурсо- и энергозатраты.

Важным элементом технологии производства безвирусного посадочного материала в культуре *in vitro* является применение регуляторов роста. Чаще всего используют природные регуляторы роста - фитогормоны (метаболиты самих растений) и их синтетические аналоги: цитокинины: природный - зеатин, синтетические - 6-бензиламинопурин (БАП), 6-фурфураминопурин (кинетин), 2-изопентениладенин (2ip); ауксины: природный ауксин - индолил-3- уксусную кислоту (ИУК) и его синтетические аналоги — индолил-3-масляную кислоту (ИМК), α-нафтил-уксусную кислоту (α-НУК); гиббереллины (ГК); витамины: аскорбиновую кислоту, пиридоксина гидрохлорид, никотиновую кислоту, тиамина гидрохлорид и др. Они участвуют в регуляции

процессов жизнедеятельности, в значительной мере определяя характер и темпы роста и развития эксплантов.

Бутенко Р.Г. [3] выявила, что соотношение ауксинов и цитокининов в питательной среде является основным фактором, определяющим коэффициент размножения яблони.

Ромаданова Н.В. и др. [12] в результате своих исследований, объектами которых служили перспективные сорта яблони, клоновые подвои, в том числе М9, ММ106, а также дикорастущие формы яблони, установили, что наиболее благоприятной для введения яблони в культуру *in vitro* является жидкая питательная среда МС, содержащая 30 г/л сахарозы, с добавлением 0,5 мг/л БАП, 0,01 мг/л ИМК, 1 мг/л ГК и 1 мг/л АК. Для дальнейшего размножения микрочеренков яблони оптимальной является твердая среда МС с добавлением 0,5 мг/л БАП, 0,01 мг/л ИМК, 4 г/л агара, 1,75 г/л джелрайта, pH 5,7.

Лукичевой Л.А. [4] на этапе введения в культуру некоторых сортов вишни и сливы лучшие результаты были получены на питательной среде МС-1 с добавлением 1,1 мкМ БАП, на втором этапе максимальный коэффициент размножения наблюдался на питательной среде МС-2, дополненной для вишни 2,2 мкМ БАП и для сливы 4,4 мкМ БАП, а максимальная частота ризогенеза была отмечена при использовании питательной среды МС-3, дополненной ауксинами в зависимости от культуры и сорта.

Иранские ученые Ahmad et al. [15] в своих исследованиях с подвоем косточковых культур GF сообщают, что добавление 0,6 мг/л БАП в питательную среду на этапе микроразмножения вызвало наибольшее количество побегов.

Пугачёв Р.М. [11] утверждает, что при микроклональном размножении сливы следует поддерживать концентрацию БАП в среде 0,5-0,75 мг/л в зависимости от плоидности эксплантов при концентрации ИМК до 0,1 мг/л.

Tantos A. et al. [23] была изучена эффективность триаконтанола при добавлении его в питательную среду на этапах введения и укоренения эксплантов подвоя яблони JTE-E4 и подвоя черешни Probocskai в концентрации 2, 5, 10 и 20 мг/л. Авторы наблюдали увеличение количества побегов на фазе размножения. В этом же исследовании эффект триаконтанола был улучшен добавлением 0,5 мг индолил-3-масляной кислоты/л.

Прониной И.Н. [10] было изучено влияние длительности воздействия ИМК на ризогенную активность клоновых подвоев яблони. Для индукции ризогенеза микропобеги подвоев яблони 54-118 и ММ 106 в течение 4, 7 и 10 дней выдерживали на агаризованной питательной среде 1/2МС с ИМК в концентрациях 2,0; 2,5 и 3,0 мг/л, после чего проводили их пересадку на среду свободную от гормонов. Начало корнеобразования отмечалось уже через 10 дней при 4-х дневном воздействии и всех концентрациях индуктора ризогенеза, а при 7 и 10-дневном – только лишь через 16 дней. Через 4 недели культивирования укореняемость достигала 83-100 %.

Контроль ризогенеза у размноженных *in vitro* побегов возможно осуществлять путём изменения состава питательных сред на этапе, предшествующем укоренению, способа аппликации индуктора ризогенеза и, в отдельных случаях, изменением температурных условий культивирования.

K. Magyar-Tabori, J. Dobranszki, I. Hudak [18] установили, что наивысшая степень укоренения (76 %) микропобегов яблони сорта "Royal Gala" была зафиксирована при культивировании перед укоренением на среде, содержащей 1,0 мг/л бензиладенина в течение 4 недель.

По мнению Vaez-Livari et al. [25], лучшим гормоном для корнеобразования у подвоя косточковых культур GF является ИУК в концентрации 0,5 мг/л.

Heраksoy S. из Эгейского Университета (Турция) [17] в своих исследованиях установила, что подвой GF677 лучше размножается на среде MS с добавлением 2.0 мг/л БАП + 0.1 мг/л НУК + 0.1 мг/л $ГК_3$. Наилучшие результаты на этапе корнеобразования дало применение среды MS с 1.0 и 1.5 мг/л НУК.

Пугачёв Р.М. [11] предлагает при укоренении гибридов сливы предварительное культивирование проводить на безгормональной среде, затем культивировать экспланты по 2 недели на свету и в темноте, на питательной среде QL [21] с половинным составом макросолей, дополненной регуляторами роста (0,001 мг/л эпибрассинолида, 0,5-1,0 мг/л ИМК).

По результатам исследований Матушкиной О.В. и Прониной И.Н. [6, 10], кратковременное воздействие ауксина на микропобеги оказывает большее стимулирующее влияние, чем постоянное его присутствие в среде. Для этого конгломерат побегов предварительно культивируют на средах с пониженным содержанием 6-бензиламинопурина (до 0,25 мг/л), а затем обрабатывают базальную часть микропобегов ИМК в различной концентрации и экспозиции: 100 мг/л в течение 30 мин, 30 мг/л - 18 часов (способствует более раннему началу корнеобразования (на 4-5 дней), повышению

укореняемости на 10-39%, лучшему развитию корневой системы, а также снижению или отсутствию каллусообразования), 2,0-3,0 мг/л - 4-7 дней в темноте (15,9-50,0% стимулирующий эффект на процессы корнеобразования). После этого побеги пересаживают на среду свободную от гормонов.

Naija S. и др. [20] доказали участие полиаминов в контроле укоренения и взаимодействие с ауксинами во время физиологической фазы укоренения. Были получены следующие результаты по опыту: укореняемость ММ 106 *in vitro* составляла 96,7 % после 6 дней культуры в темноте на среде с добавкой ауксина и перевода на вторую среду без регуляторов роста на 25 дней на свету. Без ауксина в первой среде побеги не укоренялись. Путресцин (PUT), спермидин (SPD), циклогексиламин (CHA) и аминогуанидин (AG) повышали укореняемость при использовании в первой культуре без ИУК. Дифлуорометилорнитин (DFMO), внесённый в первую среду с ИУК, ингибировал укоренение. При внесении вместе с ИМК PUT не влиял на повышение уровня эндогенных ИУК и индолил-3-ацетиласпарагиновой кислоты в побегах, но индивидуально повышал их уровни. Сходные данные получены по SPD, CHA и AG.

Часть исследователей предлагает использовать одновременно с ауксином добавки, а именно совместное применение ауксина и антиоксиданта (лимонная и аскорбиновая кислоты, поливинилпирролидон) стимулирует ризогенез подвоев и сортов яблони и груши на 13,4-40,0 % [6].

Микрорастения сливы китайской (Prunus salicina) успешно укореняли на 0,5 среде МС с добавлением 0,2-0,5 мг/л ИМК, 15 г/л сахарозы и 20-40 мг/л флороглюцина [27].

И.М. Фартзинова [13] предложила замену традиционным стимуляторам роста: согласно её исследованиям использование настойки лимонника (15-20 капель/л) при микроразмножении груши обеспечивает сокращение сроков получения полноценных регенерантов, увеличение коэффициента размножения, снижение себестоимости питательной среды.

Этим же автором [14] было предложено для микроклонального размножения подвоев яблони в качестве стимулятора роста применять экстракт родиолы в концентрации 10-30 капель/л.

Майоровой Ю.А. [5] для повышения коэффициента размножения гибридов вишни предложено использовать в качестве добавок в питательную среду новые БАВ: биоянтарную кислоту в концентрации от 0,5 до 1,0 мг/л (повышает коэффициент размножения до 20,4) и К-УНИ 2,0 мг/л (повышает коэффициент размножения до 4,4).

Беседина Е.Н. [1] предлагает использование препаратов фуролан и сукцинат калия как менее опасных, более экономичных аналогов традиционно используемым ростовым веществам (комплекс 6-БАП, ИМК, ГК) с эффективностью на том же уровне и выше. Автор считает, что применение этих препаратов значительно снизит себестоимость оздоровленного посадочного материала и повысит безопасность технологии клонального микроразмножения подвоев яблони.

Помимо регуляторов роста в питательную среду для борьбы с сапрофитной микрофлорой вводятся антибиотики.

По мнению Бунцевича Л.Л. и др. [2], при введении в культуру *in vitro* подвоя ММ 106 наиболее эффективно добавлять в питательную среду антибиотик гризеофульвин в концентрации 500 мг/л.

Майоровой Ю.А. [5] установлено, что цефотаксим в концентрации от 0,1 до 0,5 мг/л и канамицин в концентрации 10 мг/л исключает из питательной среды средовую и посадочную инфекцию при работе с культурой вишни.

На основании вышеизложенного можно сделать вывод о том, что для каждого отдельного сорта требуется индивидуальная проработка всех аспектов методики оздоровления *in vitro*: подбор оптимальных композиций питательных сред, безопасных и эффективных антибиотиков и стерилизаторов, изменение технологических приёмов. Этот фактор является определяющим для дальнейшего прогресса в решении данной проблематики в ведущих научных центрах и впервые осваивающих эту методику странах, таких как Азербайджан.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беседина Е.Н. Усовершенствование метода клонального микроразмножения подвоев яблони in vitro/ дис. … канд. с.-х. наук: 06.01.08 / Беседина Екатерина Николаевна // Краснодар, 2015. - 142 с. 2.Бунцевич Л.Л., Беседина Е.Н., Костюк М.А., Макаркина М.В. Способ клонального микроразмножения и оздоровления подвоев яблони in vitro с использованием антибиотика гризеофульвин. Патент № RU 2557387. [Электронный ресурс] Режим доступа: http://www.findpatent.ru/patent/255/2557387.html. 3.Бутенко Р.Г. Биология клеток высших растений in vitro и биотехнологии на их основе. Москва: ФБК-ПРЕСС, 1999. - 160 с. 4.Лукичева Л.А. Влияние состава питательной среды и генотипа на

клональное микроразмножение вишни и сливы in vitro. Материалы международной научной конференции "Биотехнология в плодоводстве". аг.Самохваловичи, 13-17 июня 2016. - с. 57-62. 5.Майорова Ю.А. Оптимизация этапов клонального микроразмножения гибридов вишни на основе применения новых биологически активных веществ: автореф. дис. … канд. биол. наук: 06.01.07 / Майорова Юлия Алексеевна // Краснодар, 2009. – 25 с. 6.Матушкина О.В., Пронина И. Н. Клональное микроразмножение яблони и груши в системе производства высококачественного посадочного материала. Москва: науч.-практ. журн. Агро XXI, 2009. – № 4-6. – с. 28-29. 7.Матушкина О.В., Пронина И.Н. Питательная среда для размножения яблони и груши in vitro. Патент RU2486237. [Электронный ресурс] Режим доступа: http://www.findpatent.ru/patent/248/2486237.html. 8.Матушкина О.В., Пронина И.Н. Питательная среда для ризогенеза яблони и груши in vitro. Патент RU2485768. [Электронный ресурс] Режим доступа: http://www.findpatent.ru/patent/248/2485768.html. 9.Минаев В.А. Биологические особенности слаборослых клоновых подвоев яблони при клональном микроразмножении: дис. ... канд. с.-х. наук. 06.01.07 / Минаев Вадим Александрович //Мичуринск, 2005. - 101 с. 10.Пронина И.Н. Влияние длительности воздействия ИМК на ризогенез клоновых подвоев яблони in vitro. Материалы X Международной конференции "Биология клеток растений in vitro и биотехнология". Казань, 14-18 октября 2013 г. - с. 141-142. 11.Пугачёв Р.М. Особенности размножения растений рода Prunus L. в культуре in vitro: автореф. дис. … канд. с.-х. наук: 06.01.05 / Пугачёв Роман Михайлович // Горки, 2003. – 18 с. 12.Ромаданова Н.В., Мишустина С.А., Матакова Г.Н., Рахимбаев И.Р., Кушнаренко С.В. Введение в культуру in vitro и микроклональное размножение перспективных сортов, клоновых подвоев и дикорастущих форм яблони, 2013. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://izdenister.kaznau.kz/files/parts/2013_3/2013_3_29.pdf. 13.Фартзинова И.М. Питательная среда для микроклонального размножения груши. Патент RU 2141524. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.findpatent.ru/patent/214/2141524.html. 14. Фартзинова И.М. Питательная среда для микроклонального размножения подвоев яблони. Патент RU 2111652. [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.findpatent.ru/patent/211/2111652.html. 15.Ahmad T., Rahman H.U., Ahmad C.H., Laghari M.H. Effect of culture media and growth regulators on micropropagation of peach rootstock GF 677. Pak J Bot., 35(3), 2003. - pp. 331-338. 16.Gamborg O.L. The effect of amino acids ammonium of the growth of plant cells in suspens culture / O.L. Gamborg // Plant Physiology, 1975. – v. 45, - pp. 372-375. 17.Hepaksoy S. GF677 (P.amygdalus X P.persica) klon anacının doku kültüründe sürgünucu tekniği ile çoğaltılması. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 2017, 54(4). - s. 447-451. 18.Magyar-Tabori K. Effect of cytokinin content of the regeneration media on in vitro rooting ability of adventitious apple shoots. / K. Magyar-Tabori, J. Dobranszki, I. Hudak // Scientia Horticulturae, № 129, 2011. -pp. 910-913. 19.Murashige T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // Plant Physiology, 1962. – V. 15, № 95. – pp. 473- 497. 20.Naija S. Involvement of polyamines in the adventitious rooting of micropropagated shoots of the apple rootstock MM 106 / S. Naija, N. Elloumi, S. Ammar, C. Kevers, J. Dommes // In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 2009. –v. 45, № 1. – pp. 83-91. 21.Quoirin M., Lepoivre P. Etude de milieux adaptes aux cultures in vitro de Prunus. Acta Horticulturae 78, Paris, 1977. - pp. 437-442. 22.Roberta H. Smith. Plant tissue culture. Techniques and Experiments (second edition). USA: Academic Press, 2000. -pp. 5-17. 23.Tantos A., Meszaros A., Farkas N., Szalai J. Triacontanol - supported micropropagation of woody plants. [Электронный ресурс] Режим доступа: https://www.researchgate.net/ publication/225454661_Triacontanol-supported_micropropagation_of_woody_plants. 24.Thorpe T.A. History of plant tissue culture. Chap. 1, in Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments (Smith, R. H., ed.) 2nd ed., Academic Press, California, 2000. - pp. 1-32 [Электронный ресурс] Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/5931196_History_of_ Plant_Tissue_Culture. 25.Vaez-Livari B., Salehi-Soghadi Z. In vitro rooting of hybrid GF677 (Prunus dulcis x Prunus persica). ISHS Acta Horticulturae., 726, IV International Symposium on Pistachios Almonds, 2005. 26.White P. R. Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium. Plant Physiol. 9, 1934. - pp. 585–600. 27.Zou Ying-Ning. Micropropagation of Chinese plum (Prunus salicina Lindl.) using mature stem segments / Ying-Ning Zou. - Cluj-Napoca: Not. bot. horti agrobot., 2010. v. 38, № 3. - pp. 214-218

Meyvə bitkilərinin klonal mikroçoxaldılmasının inkişaf mərhələləri

S.C. Süleymanova

Məqalədə bitkilərin biotexnologiyası, xüsusilə bitkilərdə təcrid olunmuş hüceyrə, toxuma və orqan kulturası üsulunun inkişaf istiqamətləri və etapları haqqında məlumat verilmişdir. Xüsusi diqqət bəzi meyvə bitkilərinin klonal mikroçoxaldılması texnologiyasına ayrılmışdır.

Açar sözlər: *biotexnologiya, klonal mikroçoxaltma, meyvə bitkiləri, in vitro.*

Clonal micropropagation of horticultural crops in development

S.J. Suleimanova

The review gives a general description of plant biotechnology, in particular, the method of culture of isolated cells, tissues and plant organs. The analysis of stages and directions of development is given. The main attention is paid to clonal micropropagation of some fruit plants.

Key words: *biotechnology, clonal micropropagation, fruit crops, in vitro.*